



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Revisión bibliográfica sobre el desarrollo tecnológico de la obtención de  
glucosa y fructosa a partir del almidón

Literature review on the technological development of obtaining glucose  
and fructose from starch

Autor/es

Abdeladim Kandal  
Alkhalfi

Director/es

Miguel Calvo Rebollar

Facultad de  
Veterinaria

2020

## INDICE

Introducción.....	3
Justificación .....	5
Metodología.....	5
Definición de los criterios de búsqueda .....	6
Selección de las fuentes de información .....	6
Del almidón a la glucosa. ....	7
Los primeros hallazgos .....	7
Hidrólisis ácida .....	10
Descubrimiento de la glucosa .....	14
Introducción de enzimas .....	16
En busca de la estructura de la molécula del almidón .....	18
Producción industrial del almidón. ....	19
Primeras fábricas de almidón.....	21
Datos de producción .....	22
Producción de Jarabe .....	22
Enzimas en la industria .....	22
El jarabe de fructosa .....	26
Mejoras de rendimiento .....	29
Descripción del proceso .....	32
Datos de producción .....	35
Bibliografía.....	36

## Introducción

El ser humano ha buscado el sabor dulce desde tiempos inmemoriales. El primer alimento dulce que conocemos, también usado como edulcorante, es la miel, ya que encontramos papiros egipcios con más de 7000 años en los que se puede apreciar dibujos de campesinos recolectando miel. La primera vez que se intentó producir dicha miel fue en Asia Menor, en la zona intermedia del Éufrates. Según el rey Shamash-res-hu-ussur fue él quien introdujo la cría de las abejas en el siglo VII a.C. equiparándose a la obtención del vino, la leche o el aceite. Alimentos básicos en la dieta junto con los cereales (Vázquez Hoys, 1991).

En la antigua Grecia, se consideraba un alimento de suma importancia en la dieta de los niños, así como un símbolo en la mitología griega, según la cual, Eros (el dios del amor) mojaba en miel las flechas antes de lanzarlas. También se cuenta en la Odisea como Circe sedujo con miel a los compañeros de Ulises, entre otros alimentos (Productos alimenticios griegos: La miel, 2012).

Más tarde se descubre el jarabe de azúcar en Nueva Guinea (hace 5000 años), llegando a China 500 años más tarde y pasando a Persia en el 510 a.C. Fue en ese momento cuando los soldados del rey Darío llevarían este alimento a través de los pueblos conquistados por Alejandro Magno, denominando al producto “caña de miel sin abeja”. Llega a Europa en el siglo IV a.C. y en el VII d.C. toma contacto con los musulmanes a orillas del Tigris y el Éufrates. Estos a su vez, lo llevarían a diversos países como Siria o Egipto y lo cultivarían en climas óptimos, donde fabricarían el azúcar (Cabezas Jaramillo y Campos Delgado, 2015). Es increíble pensar que, pese a las batallas y las conquistas, la curiosidad humana siguió alentando a la humanidad a buscar lo distinto, a entender y aprender unos de otros.

Generalmente, los edulcorantes forman parte de alimentos naturales y se encuentran en forma de moléculas simples, monosacáridos y disacáridos. Uno de los avances revolucionarios fue la obtención de estos azúcares a partir de moléculas complejas, como es el almidón.

El almidón es un compuesto con mucha historia, ha sido utilizado por siglos en una amplia gama de productos. Uno de los primeros usos de los que tenemos constancia, es el uso de este como adhesivo en los pergaminos egipcios 6000 años a.C. No obstante, la revolución

más grande que le dará un gran valor a este compuesto, será su uso para obtener compuestos edulcorados, aunque tendrá lugar este descubrimiento mucho tiempo después, en el siglo XIX.

Este acontecimiento tendrá lugar en un contexto histórico en el que aún no se podía trabajar con moléculas pequeñas por la falta de desarrollo. Pese a ello, se interesaron por la composición química de las plantas y sería el químico ruso Gottlieb Sigismund Kirchhoff el que consiguió obtener azúcares simples a partir de la hidrólisis ácida del almidón en 1812. No tardarían en seguirle el paso científicos como Braconnot, realizando la misma operación con diversos tipos de vegetales como lino o serrín (Herstein, 1911). Más tarde se conseguiría identificar diversos alimentos con almidón y en 1844 cambia la materia prima para obtener el almidón, pasando del trigo al maíz. Este salto producirá un aumento increíble en la producción de almidón.

En la década de 1850 y 1860, se obtiene la glucosa mediante hidrólisis química a nivel industrial. Con un rendimiento alto, aunque queda mucho margen de mejora tanto a nivel de optimización de tratamientos (tiempo y temperatura), como en la pureza del producto. El avance en otras ramas de la ciencia no se queda atrás y se van sumando los conocimientos y las aplicaciones. Un cambio revolucionario sería el descubrimiento de las enzimas entre los 60 y los 70, pasando a trabajar con condiciones menos agresivas de pH, aumentando el rendimiento de la producción y pureza del producto (García, Quintero y López, 2004).

Se observó una clara transición en la industria del uso exclusivo de la sacarosa a lo que se conoce como jarabes fructosados, suponiendo en la industria alrededor del 35% de los edulcorantes calóricos (López Munguía, 1990). Estos tienen un poder edulcorante distinto y por sus propiedades se pueden ajustar mejor a determinados procesos.

Todos estos avances han permitido la producción masiva de edulcorante pasando a aplicarse en muchas industrias alimentarias, siendo una materia prima base, en la mayoría de los alimentos procesados, así como en la bollería y confitería.

## **Justificación**

El siguiente trabajo es una revisión bibliográfica, que pretende dar una visión global acerca de la historia tras la producción industrial del jarabe de glucosa y fructosa. Así como analizar los avances decisivos en la ciencia relativa a dicha industria, entendiendo que no es sólo una rama científica la necesaria para obtener dicho resultado sino un avance estructurado y coordinado de las diversas ramas que la componen. También nos demostrará la historia, que no siempre se sabe lo que se busca, pero sí se sabe qué hacer con las respuestas encontradas, poniendo cada pieza (conclusión) en el sitio correcto del puzle de la ciencia.

Será interesante ver como las necesidades de los seres humanos abren paso a nuevas respuestas y cómo afecta esto en la sociedad una vez conseguido, pues cada avance científico llevado a la práctica conlleva un cambio de rumbo en la sociedad.

Otro motivo para realizar esta revisión, es la relevancia que tiene la producción de edulcorantes en la industria alimentaria, pues mueve una enorme cantidad de dinero, influyendo directamente en el resto de sectores. Por lo tanto, siempre se ha buscado avanzar tecnológicamente para optimizar el proceso y abaratar costes.

## **Metodología**

La cantidad de información en Internet es muy grande, en este tema y en general cualquier otro que queramos buscar. Es por ello que será importante buscar una metodología de trabajo que nos defina y nos marque el modo de trabajo. De lo contrario, desperdiciaremos mucho tiempo y no obtendremos un buen resultado. Los objetivos de establecer esta metodología de trabajo son:

- Definir los criterios de búsqueda.
- Obtener información fiable y de calidad relativa a nuestro tema.
- Clasificar y ordenar la información, para optimizar y mejorar la calidad del trabajo.

## **Definición de los criterios de búsqueda**

La historia del almidón se remonta miles de años atrás, por lo que buscaremos textos históricos que se remontan al imperio Romano o incluso al antiguo Egipto. Es por ello que debemos asegurarnos acerca de los autores de los respectivos textos. En cuanto al siglo XV y posteriores la cultura científica estaba mucho más desarrollada en Francia que en el resto de Europa. Por otro lado, Estados Unidos ha sido en el último siglo el país que más se ha desarrollado en la producción de jarabes y de almidón. Esto quiere decir que habrá mucha literatura científica respecto a este tema en inglés, ya no sólo porque es el país más desarrollado en esta industria, sino por ser el idioma internacional de la ciencia en los últimos años.

Biografías buscadas: Marcus Porcius Cato, Jacob Beccari, Dale y Langois, Dubrunfaut, Gottlieb Kirchoff, Theodore De Saussure, Andreas Maggraf, Leuwenhoek, Frank Karl Aschard, Emil Fischer, James Irvin, Payen, Thomas Kingsford

Libros buscados: De Re Rustica, Handbook of food enzymology, Microbiología industrial.

## **Selección de las fuentes de información**

Alcorze: Es un buscador que permite buscar información en los recursos que posee la universidad de Zaragoza, así como en bases de datos externas a esta. Como peculiaridad este buscador nos permite localizar publicaciones en acceso abierto (Biblioteca de la Universidad de Zaragoza, 2020).

Science Direct: En este caso se trata de una plataforma creada por Elsevier (Editorial de libros de medicina y literatura científica). Universidades y biblioteca de todo el mundo usan esta plataforma compartiendo mucha investigación científica (Elsevier, 2020). Cabe destacar que, tras buscar varios artículos sobre un mismo tema, el propio algoritmo de la página te envía al correo artículos relacionados con tu búsqueda y sorprendentemente en mi caso han sido sugerencias muy acertadas (Biblioteca de la Universidad de Zaragoza, 2020).

Google Académico: Es un buscador de Google específico para la literatura científica. Reúne la información de diversas editoriales, universidades y organizaciones académicas como pueden ser Nature, Science, Oxford, Wiley JAMA o Lancet entre otros. En cuanto

a las herramientas de búsqueda son muy precisas, se puede buscar incluso frases exactas, citas, se pueden acotar los años de publicación, ordenar las publicaciones por fecha o por relevancia entre otras cosas.

Google Patents: Buscador de patentes, muy específico, aporta datos desde el número de la patente, la fecha y el documento de dicha patente.

FAO: Se trata de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Está formada por más de 194 Estados miembros y trabaja en más de 130 países (FAO, 2020). Aporta datos interesantes en sus informes de uso frecuente en la literatura científica, como es el caso de los datos de producción a nivel mundial.

Gallica: Se trata de la biblioteca digital de la Biblioteca Nacional de Francia. Tiene más de 5 millones de documentos científicos, incluso documentos muy antiguos, difíciles de encontrar en otras bases de datos. Para este trabajo nos interesará consultar la literatura científica francesa del siglo XVI y posteriores. Otra base de datos parecida es Persée que también es hemeroteca (promovido por el ministerio superior de educación de Francia).

## **Del almidón a la glucosa.**

### **Los primeros hallazgos**

El uso del almidón se remonta a miles de años atrás. Tenemos constancia que los egipcios lo usaban como pegamento para sus papiros hace 4000 años. Realizaban la mezcla a partir de harina de trigo con vinagre diluido, que posteriormente calentaban. También podemos sacar de las narraciones de Gayo Plinio segundo (escritor y militar romano) en su obra *Naturalis Historia*, que se utilizaba el almidón como apresto.

En antiguas civilizaciones como lo fue el antiguo Imperio romano, se escribió un tratado por parte de Marcus Porcius Cato (184 a.C.), en el que se describe la producción del almidón. El grano se sumerge en agua durante 10 días, se presiona y se mezcla con agua. Esta solución se filtra sobre un lienzo y se deja sedimentar, luego se seca al sol. “*Amulum sic facito. Siliginem purgato bene, postea in alveum indat, eo addat aquam bis in die. Die decimo aquam exsiccato, exurgeto bene*” (Cato, 1934).

Encontramos el uso del almidón en otros puntos de la geografía, en China, en el 312 d.C. se producía una solución amilácea que recubría los documentos para así evitar que

absorbiese mucha tinta. Por otro lado, el profesor y farmacólogo Abu Mansur hacia el año 1100, usaba el almidón mezclado con saliva, obteniendo una solución azucarada que usaba para tratar las heridas. También se usó como cosmético en Europa en el siglo XIV, mezclado con distintos colorantes (Whistler, 1984).

A mediados del siglo XVI se utilizaba como un nuevo producto para endurecer las telas en Inglaterra. Cabe destacar que incluso la Reina Isabel disponía en su corte personal encargado exclusivamente de la gestión del almidón (Schwartz y Whistler, 2009). No obstante, el hecho de que en estos ejemplos se utilicen las propiedades del almidón, no quiere decir que se supiese qué era el almidón. No es hasta 1719 que Anton van Leeuwenhoek (inventor del microscopio) recoge las primeras observaciones de los amiloplastos presentes en algunas plantas (Imagen 1), publicándolas en su obra en 1744. De algunas de las cartas escritas por Leeuwenhoek sacamos la descripción de lo que había observado, “Finally I have turned from the seeds of plants to the seeds of trees, and then I took the seed of the chestnut tree , which is also a fruit, and I observed that the chestnut also consists of little membranes, but much smaller ones than those of the wheat, or peas and beans, and enclosed in them lie very tiny globules” (Palm Anderson y Entjes, 2018).

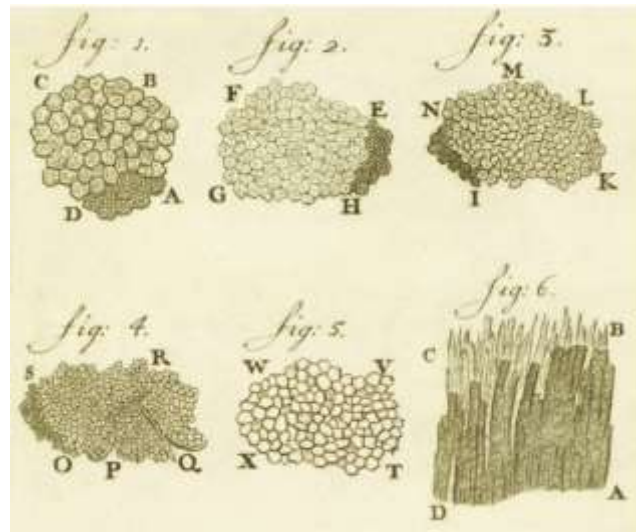


Imagen 1: Leeuwenhoek, A. Van (1719) «Epistolae physiologicae super compluribus naturae arcanis ... hactenus numquam editae ...»

Básicamente había observado membranas con material interno en varios tipos de plantas, hacía referencia a lo que hoy día conocemos como amiloplastos. Es sorprendente cómo lo que hoy día observamos en la escuela a temprana edad, fue en su día una revelación que daría paso al interés por estas moléculas y por seguir aprendiendo un poco más todo aquello que nos rodea.



En cuanto a la caña de azúcar, España fue de los primeros países de Europa en introducir este producto. Se debe principalmente a la toma de contacto con los árabes en la Península. A principios del siglo X, el geógrafo Al-Razi menciona la presencia de cultivos de caña en Almuñécar, Salobreña y Elvira, en la zona de Granada. Esta planta es mencionada en el calendario cordobés (obra donde se describen los trabajos agrícolas que había que llevar a cabo, así como la evolución y progreso que había que conseguir). Fue escrito en el 961). En los siglos posteriores se extiende el cultivo a lo largo del sur de la Península, sobre todo por la zona de Málaga y la rivera del Guadalquivir entre otros (Watson, sin fecha).

En la Edad Media, era un lujo costoso y al alcance de unos pocos. El principal productor de azúcar en el siglo XVI eran las colonias que Reino Unido tenía en las Américas, pero debido a las guerras napoleónicas en esta época, se produce un bloqueo por parte del imperio británico a todos los países afines a Napoleón. Como dichos países no plantaban la caña azucarera, se comienza una carrera en la búsqueda de un sustitutivo de la caña de azúcar. Sería el químico Andreas Sigismund Marggraf quien en 1792 mostró la presencia de este azúcar en alimentos como la remolacha y otros vegetales, pero se limitó a las observaciones. En 1797 Franz Karl Achard (alumno de Margraff) desarrolla un método de extracción de azúcar de la remolacha en una pequeña refinería en Silesia (Prusia). El rey Federico Guillermo III, ante el veto británico, decidió apoyar y financiar estas refinerías. Hasta entonces no se conocía la diferencia entre azúcares, hasta que Deyeux comenzó mostrando que no todos los azúcares eran iguales, y detalló la diferencia entre el azúcar de caña y el azúcar de uva (Fischer, 1989). Muchas veces se da en la ciencia, que la necesidad acelera el proceso de aprendizaje e investigación y da paso a nuevos descubrimientos, a veces incompletos o inacabados. Pero sin duda descubrimientos, que es lo importante.

El gran descubrimiento de Kirchoff en 1811 marcó un cambio de rumbo tanto en la industria del almidón, como en la de los edulcorantes. Obteniendo glucosa mediante hidrólisis ácida. Es gracioso el hecho de que un descubrimiento tan importante, no fuese premeditado, es decir, Kirchoff no buscaba obtener un edulcorante, pero así fue. En ese entonces la industria del almidón había supuesto un enorme crecimiento, por la alta demanda de los sectores de textil, papel y colorante. incluso se había descubierto el uso de almidón para producir sustitutos de la goma.

## **Hidrólisis ácida**

Este gran descubrimiento se lleva a cabo a manos del científico alemán Konstantin Gottlieb Sigismund Kirchoff. Éste, trabajaba como asistente en una farmacia de San Petersburgo y se convirtió en químico en 1805. Más tarde, en 1807 pasaría a ser adjunto en la Academia de Ciencias de Rusia. En la época en la que realiza el descubrimiento, Kirchoff trabajaba con diversos minerales para analizarlos químicamente. Es decir, estaba alejado del trabajo con plantas y no era la rama que estudiaba. Por otra parte, San Petersburgo empezaba a conocerse por el avance en la industria de la porcelana. El hecho de trabajar con plantas mientras estudiaba los minerales, así como el interés de la ciudad en esa época, sugiere que lo que realmente buscaba Kirchoff en esa época era un sustitutivo del pegamento para poder trabajar con la porcelana. Se comenzó trabajando con goma arábica y más tarde con miel. Ambas sustancias se usaban como fundente para permitir que el oro y otros compuestos, se adhirieran bien con la porcelana.

El experimento consistía en utilizar 100 partes de almidón, 400 partes de agua y 1 parte de ácido sulfúrico. Se recomendó diluir el ácido con la mitad de la cantidad de agua y llevarlo a ebullición. El almidón se convirtió en una solución lechosa con el resto del agua y fue vertido gradualmente en la mezcla de ácido hirviendo que se mantuvo en agitación y a temperatura de ebullición durante 36 horas en un recipiente abierto. De manera periódica se reponía el agua que se perdía por evaporación. La neutralización se lleva a cabo con carbonato de calcio, seguido de una filtración y evaporación del líquido azucarado. El jarabe, tras un tiempo de reposo, comenzó a cristalizarse (hacia el tercer día) (Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 1911).

La primera mención de este experimento se encuentra en las memorias de la Academia de Ciencias de San Petersburgo. Se describe en uno de los informes la presencia de Kirchoff con tres matraces en los cuales se encuentran diversos alimentos (patata y dos tipos de trigo) a partir de los cuales había obtenido la sustancia edulcorada. Discutió los resultados con Jons Jacobs Berzelius (profesor de química en la universidad de Estocolmo) y se repitieron sus experimentos para cotejarlos en el Royal Institute obteniendo resultados similares. Pese a obtener un jarabe dulce tras calentar el vegetal con ácido sulfúrico, no se supo que se trataba de dextrosa hasta que lo aclaró Nicolas Théodore de Saussure en 1814. El impacto inmediato de Kirchoff en cuanto a su descubrimiento se puede medir a partir del informe publicado en la revista Philosophical

Magazine (1812), que menciona que el trabajo de Kirchoff fue adoptado a gran escala en el Imperio ruso. Esto se debe a que el precio del azúcar de caña había aumentado mucho y la oferta era muy incierta. Entonces la dulce sustancia pegajosa que Kirchoff había hecho inesperadamente se convirtió en una alternativa útil al azúcar y ese fue el comienzo de la industria de la glucosa (Hull, 2010).

Se nombró una comisión gubernamental para investigar el descubrimiento de Kirchoff bajo su propia supervisión. El emperador ruso ofreció un premio de diez mil rublos al primer hombre que preparase 40 pudines (725 kilogramos) de edulcorante por el método ideado por Kirchoff. El único reconocimiento que parece haber recibido de forma oficial, fue su admisión como miembro de la Academia de Ciencias de San Petersburgo.

Doebereiner creyó haber demostrado porqué ocurría la reacción, pero se equivocó al pensar en la reacción como una simple descomposición del agua, tras la cual se producía una reacción electroquímica. Algunos químicos pensaron que la transformación se debía al calor, aunque Vogel, ya había demostrado que este no era el caso. Otros intentaron adaptar las teorías de Fourcroy, de que el azúcar preexiste en el almidón y solo es liberado por el ácido sulfúrico.

El meollo de la cuestión parecía haber sido bien apreciado por Brugnatelli, quien llama la atención sobre la peculiaridad del hecho de que solo un pequeño porcentaje de ácido es requerido para transformar grandes cantidades de almidón en azúcar, y este es, según él, el punto que aún queda por explicar por los científicos (Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 1911).

Siete años después del hallazgo de Kirchoff, el químico suizo Nicolas-Théodore de Saussure haría un descubrimiento muy interesante. Se dio cuenta que, al reaccionar el almidón en medio ácido, aumentaba su peso sin combinarse con el propio ácido, por lo que pudo concluir que el azúcar de almidón, no era más que almidón combinado con agua, siendo el ácido una condición que facilita dicha unión, también demostró que el jarabe obtenido por Kirchoff contenía dextrosa (Seetharaman y Bertoft, 2012a).

Nicolas-Théodore de Saussure expuso en la Royal Society de Londres un descubrimiento muy interesante, "La descomposición del almidón por la acción del aire y el agua a temperatura atmosférica.". En este artículo expone la teoría de la hidratación, en la que propone la adición en agua en el proceso de obtención del azúcar. También describe la

formación de estructuras cristalinas durante la experimentación. Según el resultado que obtuvo, tras quitar las cenizas del almidón, queda un 45.39% de carbono, 48.31% de oxígeno y 5.9% de hidrógeno (50.48% de agua y 3.76% de oxígeno en exceso), mientras que azúcar a partir de almidón contiene un 37.29% de carbono, 55.87% de oxígeno y 6.84% de hidrógeno (58.44% de agua y 4.26% de oxígeno en exceso), todo ello indica que había cierta absorción de agua (Wisniak, 2018).

En 1821 tras un incendio ocasionado en una industria textil en Dublín (Reino Unido), se observó que el almidón había cambiado de color a marrón por la acción del fuego (calor seco) y que dicha sustancia se disolvía en agua, dando una mezcla pastosa y adhesiva. Este fenómeno se llevó a experimentación, descubriendo propiedades que antes no se conocían (dextrinización) (Schwartz y Whistler, 2009) .

Se construyeron fábricas para producir jarabes dulces por toda Alemania, en un año se construyeron fábricas en Munich, Dresden, Bochman y Thorin. En 1876, solo Alemania tenía cuarenta y siete fábricas de jarabes de dextrosa que usaban almidón de patata para producir 33 millones de libras de jarabe (aproximadamente 15 millones de kilogramos). La primera planta en fabricar jarabes de glucosa a partir de almidón en Estados Unidos se fundó en 1831, produciendo la D-glucosa (dextrosa) a partir de 1866. En Europa también se construyeron este tipo de fábricas a lo largo del siglo XIX y en 1882 comienza a fabricarse dextrosa cristalina (Whistler, 1984). La industria de la glucosa en Reino Unido comenzó en 1855, cuando un francés, Alexandre Mambre, comenzó a producir glucosa sólida en Spitalfields (Londres). Se cree que la razón por la que viajó a Inglaterra en 1855, fue para obtener una patente que le permitiese producir azúcares a partir de la patata. Sólo en Inglaterra estaría protegida su patente, mientras que en Francia, esto no hubiera sido posible (Hull, 2010).

En abril de 1882, se comenzó a regular la fabricación y venta de glucosa en Estados Unidos. Por lo que le pidió a la Academia Nacional de Ciencias que investigara el asunto a fondo informando sobre la calidad del producto, así como su comparación con el azúcar de caña o la melaza. También investigaron sus posibles efectos nocivos cuando se usa como alimento, bebida, o como un elemento constitutivo. El comité elegido tenía suficiente poder para llevar a cabo la investigación satisfactoriamente. El comité estaba formado por los profesores Geo. F. Barker, presidente, Wm. H. Brewer, Wolcott Gibbs,

Charles F. Chandler e Ira Remsen. Visitaron y examinaron en persona ciertas fábricas de glucosa, enviaron agentes competentes a muchas otras, donde se examinaron los procesos, métodos y muestras recolectadas. Incluso se compraron otras muestras en algunos mercados, pero en menor medida, ya que era difícil su acceso en mercados abiertos. Se realizó un gran trabajo, de tal manera que se produjo mucho contenido en la literatura científica. El comité terminó su informe a fines de 1883 (Brewer, 1884).

La proporción de amilosa y amilopectina en el almidón definirá algunas de sus propiedades. Esto implica que en función del tipo de almidón que queramos obtener nos interesará trabajar con un tipo de alimento u otro. A su vez, el almidón se altera por dos fenómenos fundamentales, como son la retrogradación y la gelatinización. La gelatinización se manifiesta con cambios como la hinchazón, la rotura de la estructura cristalina o la solubilización del almidón (altera el orden molecular). Mientras que la retrogradación consiste en el reordenamiento de las moléculas de almidón gelatinizado, este reordenamiento afecta a la estructura del almidón. Ambos fenómenos afectan a las propiedades de geles y pastas que se forman (Charles *et al.*, 2005).

Algunos científicos investigaron la hidrólisis de la harina de trigo con sulfúrico, en un reactor discontinuo, a distintas temperaturas y concentraciones. Obtuvieron una conversión máxima a azúcares del 42%, a 95°C y pH 3 (Bej, *et al.*, 2008). Por otro lado, el grupo de Hoseinpour trabajó con ácido diluido y consiguió hacer reaccionar a casi todo el almidón a una temperatura de 130°C. Trabajando con un ácido al 1% (Hoseinpour *et al.*, 2010).

El grupo de Miao se centraron por su parte en investigar sobre la estructura del maíz ceroso y su digestión. El ácido que usaron para la hidrólisis fue HCl 2,2 N a una temperatura de 35°C. Observaron que las regiones amorfas del almidón se digieren antes, contribuyendo a aumentar el almidón digerible y disminuir el almidón resistente y de digestión lenta (Miao *et al.*, 2011).

Azmi y colaboradores trabajaron la hidrólisis ácida con almidón de yuca, usando el ácido nítrico como reactivo. Se percataron de que la concentración de almidón es muy importante, incluso más que la concentración de ácido o el tiempo de reacción (Azmi, *et al.*, 2016).

Tipo de almidón	Ácido	pH	Temperatura	Tiempo de Reacción	Hallazgos
Harina de trigo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	entre 2 y 5	75-95°C	15-105 min	Conversión máxima (42%) de almidón a azúcar reductor obtenido a 95°C y ph 3
Patata	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> diluido 1%	-	70-150°C	0-40 min	Optimización en la obtención de glucosa a 130°C 1% de ácido y 7,5% de carga durante 30 minutos
Maíz ceroso	HCl 2,2 N (2,2M)	-	35°C	3,8 y 15 días	las regiones amorfas se hidrolizan antes, con mayor contenido en almidón digerible.
mandioca	HNO <sub>3</sub> 0,12-0,22M	-	121°C	19-30 min	el mayor rendimiento de glucosa se obtuvo con 2,5% de hojas de mandioca y 2,5% de almidón hidrolizado, usando nítrico al 0,2M a 160°C 10 min (rendimiento del 0,96)
Sagú	HCl 0,14M	-	30-90°C	6-24 h	La hidrólisis ácida disminuye el punto de gelificación y mejora la solubilidad del almidón de sagú en agua
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2,5%	entre 1 y 2	121°C	120 min	obtención de 6,6 % de azúcares reductores

Esquema 1: Distintos estudios acerca de la hidrólisis ácida de los distintas materias primas amiláceas (Azmi, Malek y Puad, 2017).

En líneas generales podemos concluir que la hidrólisis ácida, es un proceso fácil a nivel de procesado, aunque difícil de controlar. No podemos controlar la reacción y se producen subproductos no deseados, por otro lado, el rendimiento no es muy alto.

Se trata de uno de los métodos más antiguos para la modificación del almidón, tiene algunas desventajas como la presencia de sustancias que alteran las características organolépticas del jarabe, por ello a partir de los 60 se ha hecho la transición en la industria alimentaria hacia la hidrólisis enzimática. No obstante, se sigue usando la hidrólisis ácida para algunos procesos. Como cuando se desea obtener jarabes con altos grados Brix (Cruz, 2016).

### Descubrimiento de la glucosa

Andreas Marggraf comenzó los primeros trabajos experimentales con azúcares. El principal objetivo con el que se trabajaba era la extracción pura de dichas sustancias. La falta de conocimiento y la precariedad con la que se trabajaba no permitieron hacer grandes avances, pero sí pequeños avances claves. Consiguió aislar por primera vez la

glucosa, cuyo nombre fue asignado por Jean Baptiste Dumas en 1838. El nombre tiene su origen en la palabra griega "*Glycos*" que significa dulce (Viviana, 2017). El hecho de que Marggraf no le diese nombre a la molécula puede, deberse al hecho de no saber la importancia de lo que había descubierto.

En 1847 el químico francés Dubrunfaut también concluye que el azúcar obtenido por la hidrólisis del almidón, no es igual al conocido hasta entonces. Pues sus propiedades ópticas son distintas. Introdujo el uso de la diastasa en la reacción (descubierta anteriormente por Payen en 1833) obtenida de la malta. Pese a usar esta enzima como catalizador, no sabían aún que se trataba de una proteína, tampoco se conocía el término enzima. No obstante, obtuvo así un azúcar simple que se asemejaba más al azúcar de la uva, pero, no se prestó mucha atención a dicha observación. El profesor O'Sullivan sigue con la idea de Dubrunfaut veinticinco años más tarde, retomando los experimentos de este y otros científicos, seguía habiendo un problema con esta reacción y es que no se conseguía convertir en glucosa todo el almidón. No se conseguía superar el 50% del rendimiento, en caso de usar la diastasa no suponía más de un 65% (Seetharaman y Bertoft, 2012a).

El principal fallo que tenían era el haber trabajado a 70°C desde un primer momento, ya que a esta temperatura se destruye la  $\beta$ -amilasa. El profesor O'Sullivan realiza otros experimentos en los que trabaja a temperaturas de 40°C. La simple variación del parámetro de la temperatura, le hizo entender que las condiciones para el correcto funcionamiento de la diastasa eran imprescindibles. También que el azúcar obtenido era un azúcar simple y no una mezcla de dextrosas y dextrinas como se pensaba en un principio. Del mismo modo que confirma que la maltosa se puede transformar en glucosa mediante la acción de un ácido.

En 1878 se presenta un informe a la Société Chimique (Francia) por parte de Musculus y Gruber, confirmando que la hidrólisis de la maltosa da como resultado 2 moléculas de glucosa (en este informe no se llega a hablar de hidrólisis sino de hidratación, aún no se conocía la reacción). Es un momento clave, pues se define por primera vez el almidón como un polisacárido formado por la unión de maltosas, tampoco queda muy claro que entendiesen la forma de unión y la compleja estructura, pero sin lugar a dudas es un punto clave en esta historia.



No se conocía la estructura de los monosacáridos, ni se entendían las uniones entre estos. Se comenzó a entender la estructura tras las publicaciones de Walter Norman Haworth y Emil Fisher. En 1893 se describe el enlace glicosídico y la estructura cíclica de la glucosa (Seetharaman y Bertoft, 2012a).

## **Introducción de enzimas**

Anselme Payen era un icono en su época en el panorama científico, debido a que su padre era dueño de varias fábricas en las que muy pronto estaría al frente. Tenía una capacidad increíble para pensar como científico y como empresario. Esta capacidad analítica y el tremendo ingenio hizo que la industria química avanzase a pasos agigantados.

En 1820 a la edad de 25 años, asumió la responsabilidad de la gestión plena de las muchas fábricas establecidas por su padre. Entre estas fábricas había una de remolacha azucarera, una planta de producción de ácido sulfúrico, de ácido clorhídrico, azufre, gelatina, sal amoniacal y un laboratorio especial para la fabricación de productos químicos requeridos en la industria farmacéutica. La fábrica de remolacha azucarera despertó el interés de Payen por la agricultura y la aplicación de la ciencia en esta. Publica en 1828 junto con Alphonse Chevalier un libro llamado "*Traité de la pomme de terre*" donde describe minuciosamente la preparación de diversos alimentos y piensos, así como la descripción de azúcar y jarabe o la obtención de almidón a partir de patatas.

Entre 1835 y 1842 Payen presentó siete memorias relacionadas con el desarrollo y composición de las plantas y árboles. Eran de tal calidad que la Academia decidió publicarlos en su *Recueil des Savants Étrangers* (una revista publicada por la Academia para publicar contribuciones científicas importantes de los no miembros). Los estudios más importantes fueron *Mémoire sur la Diastase* (1833) y *Composition Élémentaire de l'Amidon* (1836) trabajo premiado por la *Académie des Sciences* en 1840. Fue tal el éxito, que su nombre pasó a estar muy vinculado a la historia del almidón, las dextrinas y como no, la diastasa (*Annales de Chimie et Physique*, 1833).

Anselme Payen consiguió aislar en 1833 una amilasa de una disolución hecha a partir de malta, junto con Jean-François Perscoz. Describió en su estudio las propiedades de dicha molécula, tanto su solubilidad, como su actividad y en qué parte de la planta la podemos encontrar. El nombre que le dieron hacía referencia a la función de la molécula, la denominaron diastasa, que significa, separación en griego (Macho, 2015).



La diastasa se genera en el grano durante la germinación y permite convertir el almidón en sustancias solubles paulatinamente. Luego transporta azúcares y nutrientes al tallo naciente y formar tejido. Estudió cada posible detalle de la transformación del almidón en dextrina y luego en azúcar por la acción de la diastasa. También demostró cómo el almidón, una vez se rompe, se desplaza de un tejido a otro, tanto para acumularse de nuevo, como para participar en la formación de membranas celulares en el tejido. Estableció la teoría de fabricación de cerveza, descubrió el proceso utilizado para obtener dextrina, determinó su composición, y demostró que es un isómero de almidón. Por su descubrimiento de la diastasa, Payen es considerado por muchos como el padre de la bioquímica (Wisniak, 2018).

En 1870 se comienza a estudiar en profundidad la estructura de la diastasa. El hecho de que los distintos investigadores trabajaban bajo distintas condiciones, impedía obtener resultados parecidos y por lo tanto no se podía llevar a cabo una comparación y conclusión. La conclusión a la que sí habían llegado, es que no había manera de superar una actividad superior al 51%. Es decir, por mucha cantidad de almidón con la que trabajasen y por mucha diastasa utilizada, no se conseguía que se transformase en jarabe más del 51% del sustrato. Esto se debía a que la temperatura a la que se trabajaba era superior a los 65°C, por lo que la enzima  $\beta$ -amilasa se inactiva. El primer científico en trabajar a condiciones de temperatura más leves sería el irlandés O'Sullivan en 1872 demostrando mayores rendimientos en la reacción. Fue de vital importancia para comprender la acción de la diastasa, algunas de las conclusiones que sacó fue que con la diastasa sólo se obtenía maltosa y dextrina, que la acción de la diastasa comienza unos pocos grados por debajo de la gelatinización del almidón. Por último, observó diferencias trabajando a 63°C, a 64-68°C y a 68-70°C. En 1978 Musculus y Gruber concluyen que el almidón se divide en maltosa sucesivamente en 4 pasos, obteniendo una sola molécula en cada etapa. Según esta teoría, el almidón era un polímero de 10 o 12 unidades, O'Sullivan no compartía esta teoría y estaba convencido que no era correcta, pues según él, había varios elementos por los cuales esa teoría de división no se sostenía.

En 1886 Lintner trabajó con la diastasa obteniendo resultados interesantes. Los avances científicos ya permitían métodos de aislamiento de enzimas, así que pudo probar la presencia de nitrógeno en la enzima y llegó a conclusiones como que cuanto mayor sea el contenido en nitrógeno, mayor es la eficiencia de la diastasa. Clasificó la molécula

como una “clase especial de” proteína. No sería hasta 1889 que Wijsman conseguiría separar dos enzimas en la mezcla de la diastasa. Esta separación la consiguió gracias a la diferencia de velocidad a la que recorren un gel con almidón. Este método se denomina zimografía, es una técnica de electroforesis que permite observar actividad de enzimas, a estas enzimas las denominó maltasa y dextrinasa. Según él, la maltasa era sensible a los cambios de pH mientras que la dextrinasa era sensible a los cambios de pH, mientras que la maltasa lo era a los cambios de temperatura. Más tarde Klinkerberg retomó este estudio en 1931 corroborando los mismos resultados, las llamó  $\alpha$  y  $\beta$  amilasa (Seetharaman y Bertoft, 2012b).

### **En busca de la estructura de la molécula del almidón**

Uno de los diversos estudios de Payen acerca del almidón, pudo responder a varias preguntas que rondaban entre los científicos de dicha época. No se conocía si el almidón era una entidad única o si las plantas lo producían en una gran variedad de formas. El artículo publicado en 1836 y demostró que las sustancias amiláceas extraídas de raíces, tallos y granos de diferentes plantas. Pueden variar en su forma, dimensiones, y estado de agregación. Pero todos coincidían en la composición química. Ya provenga de los tubérculos de patata, de los granos de remolacha azucarera o de los tallos de cactus. Demostró que en los gránulos de almidón estaban formados por una serie de cadenas que se entrelazan unas en otras y aumentan su cohesión con la edad.

Él estableció que el almidón se acumula en órganos desarrollados, donde constituye una reserva de un material que puede ser asimilado y capaz de contribuir a la nutrición de la planta. Además, Payen demostró que el almidón no se disuelve en agua, a menos que sea transformado.

Entre 1880 y 1920 hubo tres grupos de científicos que contribuyeron enormemente a la comprensión de la estructura molecular de la glucosa y maltosa, que más tarde sería la base para entender estructuras de diversos polisacáridos. Estos eran Emil Fischer, James C. Irvin y Walter N. Haworth. Todos ellos, científicos de gran prestigio y renombre. En la universidad de Berlín Fischer consigue describir por primera vez en 1893 el enlace glicosídico. También describe la estructura del anillo de glucosa con un puente de oxígeno entre el C1 y el C4. A raíz del descubrimiento del anillo de glucosa, concluye la existencia de los estereoisómeros.

En conclusión, sabemos actualmente que el almidón se trata de un polisacárido macromolecular que se almacena en gránulos en los diversos vegetales como sustancia de reserva. Su fórmula empírica se simplifica a  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Se compone de dos tipos de moléculas, por un lado, tenemos la amilosa (en un porcentaje de 20-25%), formada por una cadena lineal y flexible de D-glucosa (500 o más), se unen por un enlace  $\alpha$ -(1,4) glucosídico. Luego tenemos la amilopectina (en un porcentaje de 80-85%), molécula con un elevado grado de ramificación, las subunidades que la componen son también de D-glucosa al igual que en la amilosa, en cambio se unen por dos tipos de enlace, cadenas lineales unidas por el enlace glucosídico  $\alpha$ -(1,4) y ramificaciones unidas a través de un enlace  $\alpha$ -(1,6), que se producen cada 20 o 30 unidades de D-glucosa (Esquema 2).

Propiedades	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Lineal ( $\alpha$ -1,4)	Ramificada ( $\alpha$ -1,4; $\alpha$ -1,6)
Disolución	Inestable	Estable
Gel	Rígido e irreversible	Blando y reversible
Formación de complejos	Favorable	Desfavorable
reacción con Yodo	Azul	Rojo-púrpura
Digestibilidad $\beta$ -amilasa	100%	60%
Grado de polimerización	1.500-6.000	30.000-300.000

Esquema 2: resumen de las propiedades del almidón y estructura (Zobel, 1988)

## Producción industrial del almidón.

En Europa se comenzó a fabricar el almidón a partir de trigo en la Edad Media. Uno de los países cuya calidad de producción se tenía en estima en aquella época era Holanda. El almidón se hidrolizaba parcialmente a partir de vinagre y su principal uso entonces, era para endurecer las telas. Paralelamente, hacia el 1500 se descubre en América el maíz y sería Cristóbal Colón el que introdujese dicho alimento a Europa. La primera plantación registrada se lleva a cabo en Sevilla en 1494, más tarde se extiende a Europa, Asia Menor y pese a ser Asia uno de los continentes donde llegaría más tarde, es el país donde se descubre el maíz ceroso en 1909, que tuvo gran importancia en la industria (Eckhoff y Watson, 2009).

El descubrimiento de Jacobo Beccari en 1745 supuso un gran avance para el almidón de trigo, ya que permitió separar la harina en una fracción amilácea “amylaceum” y una fracción de gluten, a la que denominó “glutinosum”. La separación la llevó a cabo mediante el lavado de la harina. Este proceso se convertirá más tarde en la base para procesar el almidón de trigo a nivel industrial (Maningat et al., 2009).

En el siglo XVIII se buscaban fuentes de almidón que supusiesen un menor coste de producción, pues el grano era muy caro como para ser utilizado como materia prima, convirtiéndose cada vez más en una necesidad. Sieur de Guife recomendó al gobierno francés el uso de patatas para fabricar almidón en 1732, en otros países como Alemania se data esta industria en el 1765 (Schwartz y Whistler, 2009). No tardarían otros países en buscar fuentes de almidón alternativas, incluso se premiaban las nuevas propuestas entre la comunidad científica. En Inglaterra hacia el 1797 la “Society for the Encouragement of Arts” ofrecía un premio de 30 guineas o una moneda de oro a cualquier persona que ofreciese un sustitutivo del grano. El premio se lo llevaría Jane Gibbs ya que consiguió convertir 200 libras (90 kilogramos aproximadamente) de almidón a partir de raíces de la especie *Arum maculatum*, pese a ser la ganadora, su descubrimiento no era tan innovador, ya que un Señor de Vaudreuil había propuesto esta planta como fuente de almidón en 1716 (Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 1911).

Alrededor de los años 70 había dos procesos extendidos para la producción de almidón de trigo. Uno era conocido como el proceso Martin, que consistía en la separación de gluten y almidón mediante el lavado de una masa rígida. El segundo método consiste en separar el almidón y el gluten de una masa fina.

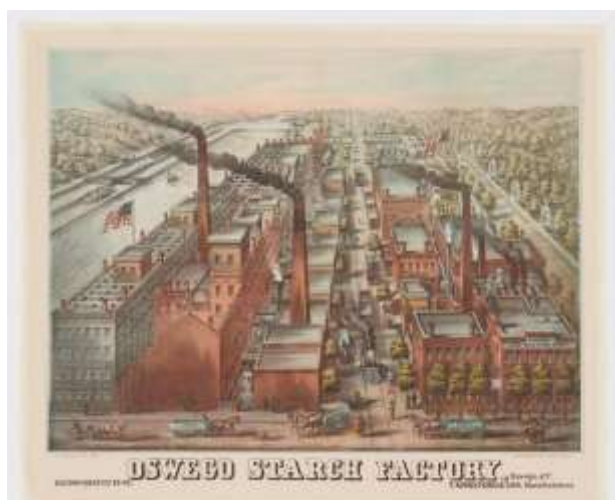
En el proceso Martin se mezclan 10 partes de harina con 6 o 7 partes de agua para hacer la masa, después se lava en cubetas con abundante agua, de esta manera se obtiene gluten purificado y una lechada de almidón. Esta lechada se someterá a concentración y dará dos tipos de almidones. El proceso produce una elevada cantidad de efluentes que habrá que tratar. Algunos procesos usados para el tratamiento de efluentes son la digestión anaeróbica o aeróbica, el riego por aspersión o el secado por evaporación (cuyos subproductos se destinarán a alimentación animal). El método Martin se fue perfeccionando a lo largo del siglo XX, pues fueron apareciendo nuevas tecnologías de separación de almidón y gluten e incluso se modifica ligeramente la línea de proceso, incorporando los principios de análisis de peligros y puntos de control crítico (PCC).

En cuanto al segundo proceso, conocido como “batter process”, tiene su origen en Canadá, ideado por Shewfelt y Adams. Consiste en mezclar una parte de harina de trigo junto con 1.8 partes de agua a 43°C (si aumentásemos mucho la temperatura habría aglomeración de las hebras de almidón y dificultaría el procesado). Después se va tamizando y sometiendo a centrifugación hasta obtener un almidón de calidad. Los avances tecnológicos introdujeron en esta industria dos máquinas que cobrarían importancia y facilitarían el trabajo. Estos son los hidrociclones o decantadores, para una separación física del gluten y el almidón, y los homogeneizadores, para separar por aglomeración. Ambas se extendieron globalmente hacia los años 80 (Maningat *et al.*, 2009).

### **Primeras fábricas de almidón**

La primera fábrica que se construye sería en 1807 por Gilbert, en la región de Utica (Nueva York). Era una fábrica de almidón de trigo, que en 1849 pasaría a ser su materia prima el maíz. En 1815 se comienza a obtener almidón del arroz, aunque estos modelos de fábricas no tuvieron mucho éxito debido a que el arroz utilizado era importado. En 1820 comienza la producción de almidón de patata, que tuvo tal crecimiento que en 1895 llegaron a construirse 64 fábricas a lo largo de todo el país. Produciendo once millones de kilogramos anuales con un valor de 24 millones de libras.

La revolución que supuso la incorporación del maíz a esta industria. Fue gracias al proceso desarrollado por Thomas Kingsford (la molienda húmeda de maíz). En 1880 hubo 140 plantas de procesado, entre las plantas de trigo, maíz y patata. Pero en 20 años se reducirían a 80 con una producción de nada más y nada menos que 11 millones de kilogramos anuales de almidón (Schwartz y Whistler, 2009).



Lewis, Charles E. (Lithographer); Oswego Starch Factory, Oswego, N.Y. Incorporated 1848. T. Kingsford & Son, manufacturers. The Huntington Library, Art Museum, and Botanical Gardens.

## **Datos de producción**

El almidón modificado es usado cada vez más en la industria alimentaria y su producción ha crecido bastante en los últimos. En 2011 la producción mundial de almidón ascendió a 73 millones de toneladas. El almidón crudo por lo general se lleva a procesamiento mediante esterificación, oxidación de grupos hidroxilo o, por otro lado, de tratamientos físicos, que implican formación o ruptura de las cadenas por la acción de la temperatura, de la fuerza mecánica o de ambas (Kaur *et al.*, 2012).

Según el informe realizado por Global Analysts (empresa líder en investigación de mercados), la producción mundial de almidón en el año 2011 fue de 73 millones de toneladas en 2011 mientras que la producción de cultivos que contienen alto porcentaje de almidón (arroz, trigo, maíz, patata, yuca...) en 2012 ascendió a 3000 millones de toneladas. Estos datos nos permiten entender el calibre de la importancia de este producto, ya no sólo en la dieta, pues ha sido esencial a lo largo de la historia y lo sigue siendo, sino también en muchas otras industrias que lo usan como materia prima. Sin embargo, el reciente consumo excesivo de carbohidratos glucémicos, especialmente almidón, requiere el desarrollo de un producto más resistente a la digestión y menos tipos de almidón glucémico. La bioingeniería de almidón está buscando generar el llamado almidón resistente (Blennow *et al.*, 2013; Hebelstrup *et al.*, 2015).

Estados Unidos es en la actualidad, el país que mayor producción tiene a nivel de almidón. En cuanto a Europa, es totalmente autosuficiente en la producción de almidón y su principal cliente son los Estados Unidos (que producen 4 veces más de almidón, destinado principalmente a edulcorantes y combustible). Produciéndose un crecimiento anual del 3%. Las principales materias primas usadas son trigo, patata y maíz, este último es sin duda el producto que mayor importancia tiene (M. Wilson *et al.*, 2014).

## **Producción de Jarabe**

### **Enzimas en la industria**

El primer gran avance tecnológico en la industria se llevó a cabo en 1940 a manos de Dale y Langois. Estos fueron los que patentaron el uso de enzimas en la industria de los jarabes, para ello usaron una  $\alpha$ -amilasa proveniente de hongos. En 1951 se nombra como amiloglucosidasa y glucoamilasa a las enzimas de *Aspergillus niger* y *Rhizopus* respectivamente, aunque actualmente nombramos a ambas enzimas como glucoamilasa.

Después de la Segunda Guerra Mundial, algunos investigadores experimentaron sin éxito con diferentes métodos de conversión alcalina de dextrosa a fructosa. Otros científicos centraron su atención en la conversión enzimática de dextrosa a fructosa. Esto no se consiguió hasta mediados de la década de 1950. Richard Marshall y Earl Kooi, que trabajaban en la empresa Corn Products, descubrieron que el tratamiento de la dextrosa con una enzima xilosa isomerasa podría convertir una parte de esta en fructosa (Bode et al., 2014).

Más tarde se comenzó a investigar la forma de eliminar la transglucosidasa. Esta enzima cataliza la reacción inversa, por lo cual su presencia reduce el rendimiento en la producción de glucosa. En la búsqueda de la sustitución total de la hidrólisis ácida por la hidrólisis enzimática, se llegó a la conclusión de la necesidad de una enzima que fuese termorresistente para poder actuar sobre el almidón gelatinizado. Boidin y Effront encontrarían esta enzima, que comenzó a usarse en otro tipo de industrias, como la cervecera, la textil o la industria del papel. Como siempre ocurre en la ciencia, se busca la polivalencia de todo aquello que se descubre, respondiendo siempre a la pregunta de ¿Para qué más puede servir? Era cuestión de tiempo que se utilizase este tipo de enzimas en la industria del almidón y su uso comercial se aplicó en 1960. En este mismo año, a la empresa Corn Products le fue asignada una patente respecto al trabajo que llevaba a cabo con enzimas. Por otro lado, los investigadores de la agencia Japonesa de Industrial Science and Technology, persiguió otros sistemas enzimáticos para producir fructosa y ejecutivos de varias empresas estadounidenses (de refinado de maíz) visitaron Japón para explorar su trabajo a mediados de los sesenta. En 1966, se otorgó una licencia exclusiva a Clinton Corn Processing para un proceso en el que usaban una glucosa isomerasa derivada de *Streptomyces*, dicho proceso se patentaría cinco años más tarde (Yoshiyuki y Osamu, 1971). La primera producción que llevó a cabo la empresa se realizó en 1967, se llevó a cabo un jarabe comercial que se conocía como “HFCS” (del inglés, high fructose corn syrup) con un bajo contenido en fructosa, aunque se consiguió subir de un 15% a un 42% en menos de un año. La compañía Coca-Cola sería la primera en dar uso de este tipo de jarabes sustituyendo el 25% del azúcar utilizado en la Fanta por HFCS. En cuanto a la producción de fructosa tuvo como factor innovador el uso a nivel industrial del sistema inmovilizado de enzimas, supuso una reducción sustancial en los costes de producción. Del mismo modo que se consiguió aislar muchos tipos de carbohidrasas, consiguiendo varios tipos de jarabes (Nigam y Singh, 1995).



Otro punto de vista, u otra manera de trabajar eficientemente, es pensar en la dualidad que tenemos en este proceso. Es decir, si trabajo con un enzima y su sustrato, no me tengo que limitar a pensar que condiciones tengo que obtener para que actúe dicha enzima con el mayor rendimiento. También me tengo que plantear la pregunta de ¿Qué características tiene que tener el sustrato para obtener de manera más sencilla el resultado que quiero?, este sería el siguiente paso que siguieron los científicos, se modificaron almidones para obtener mayores porcentajes de amilosa en estos.

Las enzimas industriales utilizadas para la ruptura o lisis del almidón, se pueden clasificar a groso modo en cinco grupos. Por un lado, tenemos endoamilasas y exoamilasas que actúan principalmente sobre los enlaces  $\alpha$ -1,4. En cuanto a las ramificaciones del almidón son atacadas por las enzimas que actúan sobre el enlace  $\alpha$ -1,6 (las podríamos llamar enzimas desramificadoras). Por otro lado, tenemos las isomerasas, que se usan para transformar la glucosa en fructosa y por último tenemos las ciclodextrinas glicosiltransferasa, que degradan el almidón mediante reacciones de ciclación.

Esta clasificación no recoge todos los tipos de enzimas que actúan sobre el almidón. Existen otras enzimas que producen oligosacáridos específicos, pero no se han llevado a una comercialización masiva, es decir, no se trabaja con estas enzimas a nivel industrial. Tenemos también un grupo de dos tipos de enzima que no actúan directamente sobre el almidón, pero sí se usan en la industria. Es el caso de las celulasas y endopeptidasas. Las primeras mejoran la filtración de los jarabes, mientras que el segundo tipo de enzima rompen el complejo almidón proteína, mejorando el rendimiento.

Hay dos variedades de endoamilasas, las termoestables y termolábiles. Las termoestables son de origen bacteriano y provienen de la especie *Bacillus*. Se trata de  $\alpha$ -amilasas. Dentro de estas, tenemos la especie *B. subtilis* y *B. licheniformis* que tienen importancia comercial. La especie *Bacillus Subtilis* se ha utilizado durante muchos años a una temperatura en torno a 65-70°C en presencia de Ca (2+) para su estabilización (Asgher *et al.*, 2007). Puede incluso aguantar temperaturas más altas, pero es menos estable que otras enzimas. En cuanto a *B. licheniformis*, se comenzó usando en 1973, tiene mucha mejor estabilidad y no necesita del uso de calcio. Además de poder actuar a temperaturas más elevadas y permanecer activa en un rango de pH más amplio (Esquema 3). Hasta entonces, era necesario enfriar el almidón tras la gelatinización para añadir las enzimas, pero este cambio permitió añadir las enzimas a la temperatura de 100°C (Maldonado-



Guzmán *et al*, 1995).

Type	Common name	Source	Substrate specificity	Optimum	
				pH	Temp. (°C)
Endoamylase	Bacterial amylase	<i>Bacillus subtilis</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	6.0	65–70
		<i>B. licheniformis</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	5.0–7.0	90
Exoamylase	Fungal $\alpha$ -amylase	<i>Aspergillus oryzae</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	4.5	50–60
	Amyloglucosidase	<i>A. niger</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	4.0–5.0	60
$\alpha$ -1,6-amylase	Bacterial $\beta$ -amylase	<i>Bacillus</i> sp.	$\alpha$ -1,6-Glycosyl	5.0	55–60
		<i>Clostridium</i> sp.	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	5.5–6.0	75–85
	Pullulanase	<i>Klebsiella aerogenes</i>	$\alpha$ -1,6-Maltotriosyl	5.0	60
	Isoamylase	<i>Pseudomonas</i> sp.	$\alpha$ -1,6-Heptasacch.	4.0	50–55
Exo- $\alpha$ -amylases	Exomaltotriohydrolase	<i>Streptomyces griseus</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
		<i>B. subtilis</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
	Exomaltotetrahydrolase	<i>B. circulans</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
	Exomaltopentaohydrolase	<i>Pseudomonas</i> sp.	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
	Exomaltohexaohydrolase	<i>B. subtilis</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
Isomerase	Glucose isomerase	<i>B. circulans</i>	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	—	—
		<i>B. circulans</i>	Aldo/keto pentose	8.2	65
Glucanotransferase	Cyclodextrinase	<i>B. macerans</i>	Aldo/keto hexose	5.0	50
		<i>Thermoanaerobacter</i> sp.	$\alpha$ -1,4-Glycosyl	4.5	90
Endo/Exocellulase	Fungal cellulase	<i>Trichoderma reesei</i>	$\beta$ -1,4-Glycosyl	—	—
Endoprotease	Bacterial protease	<i>B. licheniformis</i>	—	6.5	90
		<i>B. subtilis</i>	—	6.5	65–70

Esquema 3: Clasificación de enzimas implicadas en la producción comercial de jarabes de almidón, maltodextrinas y ciclodextrinas (Maldonado-Guzmán *et al*, 1995).

En cuanto a la industrialización del proceso, se busca el ahorro económico. Para lo cual se han desarrollado métodos tanto para la obtención de amilasas como en el procesado del almidón (fermentación en estado sólido o fermentación sumergida). En el caso de las enzimas, no siempre se pueden usar directamente en los reactores, necesitan adaptaciones. En la actualidad, empresas como Genencor International BV (empresa holandesa de biotecnología) desarrolla y comercializa enzimas para su uso en la industria. Por ejemplo, la amilasa de *Aspergillus kawachi* y la glucoamilasa de *Aspergillus niger* que trabajan sinérgicamente para hidrolizar el almidón, se usan sobre seis tipos de sustratos y trabaja a temperaturas bajas (32°C) sin que ello influya en su resultado. Esto es gracias a la actividad de sus glucoamilasas (permiten perforar fuertemente los gránulos de almidón) (Ruiz, 2009).

En la actualidad aún se obtiene algunos tipos de enzimas industriales de animales o plantas, generalmente se trata de endopeptidasas. En cuanto a las enzimas destinadas a trabajar con los carbohidratos como sustrato, se obtienen de la síntesis producida por microorganismos. Estos se cultivan en grandes fermentadores (biorreactores) de gran capacidad para aumentar la eficiencia y disminuir los gastos.

En el cultivo sumergido, tenemos una modalidad en la que los nutrientes se encuentran en forma soluble en la solución líquida. Por otro lado, los cultivos en estado sólido en el que el sustrato transformado por el microorganismo es sólido, se distinguen dos tipos. El primero es aquel cuyo material sólido formado se encuentra tanto como nutriente como soporte físico del microorganismo. El segundo tipo en cambio, tiene una parte sólida inerte, que sólo actúa como anclaje del microorganismo. En un principio se usaba este proceso para la obtención de pan y/o queso, desarrollando un mayor avance en occidente los últimos años, hasta llegar a la producción de *Aspergillus oryzae* mediante el proceso Koji (Takamine, 1914).

Para la elección de enzimas industriales, encontramos varios criterios a tener en cuenta. Queda claro que no usaremos cualquier tipo de enzima ya que las condiciones en las que se trabaja son extremas. Por un lado, tendremos en cuenta la especificidad, la cinética de reacción, estabilidad de pH y temperatura, efecto de los inhibidores y afinidad con el sustrato. El enzima seleccionado tiene que ser altamente activo en las concentraciones a las que se trabaja en la industria y completar dichas reacciones en el menor tiempo posible. Por otro lado, será importante la tolerancia que dicha enzima tenga a los metales pesados, y no necesitar de cofactores para actuar (Eggleston, 2007).

### **El jarabe de fructosa**

La primera patente en cuanto al jarabe de fructosa, fue para una empresa de refinación de productos de maíz situada en Nueva York en 1944. Demostrando que la dextrosa en presencia de un catalizador alcalino podía pasar a fructosa (en un 40%), aumentando el poder edulcorante (Cantor *et al.*, 1944). Por parte de los autores, el azúcar se asemejaba en sus propiedades al azúcar invertido, pero la realidad era algo distinta. El hecho de que se produjesen en esta reacción manosas y azúcares no fermentables, cambiaba las propiedades del azúcar y fue entre otros el motivo por el que en un principio no consiguió sustituir a la dextrosa (Bode y Empie, 2014).

La fructosa es un monosacárido que se usa de varias maneras en la industria, no sólo en la industria alimentaria sino también en la industria farmacéutica y médica. La obtención del jarabe se puede obtener tanto de la inulina como del almidón, a través de la hidrólisis enzimática o incluso mediante la hidrólisis química. En general la hidrólisis química se usa poco, ya que se pueden obtener anhidros de difructosa y otros productos de color que

disminuyen el rendimiento de la reacción, así como implica una mejora sustancial en la maquinaria industrial necesaria y un mayor requerimiento energético. El proceso más común es la síntesis a través de la hidrólisis enzimática del almidón a partir de cual se obtiene glucosa, después se somete a un proceso de isomerización de dextrosa a fructosa mediante la enzima glucosa isomerasa (también se puede usar un complejo enzimático en el que se usa también  $\alpha$ -amilasa y glucoamilasa). El rendimiento del proceso no es muy alto, ronda el 42% de fructosa un 50% de glucosa y un 8% de otros azúcares.

El jarabe alto en fructosa (HFS) tiene una forma alternativa para su obtención y es a partir de la inulina, para ello se usa la enzima inulinasa (Imagen 1).

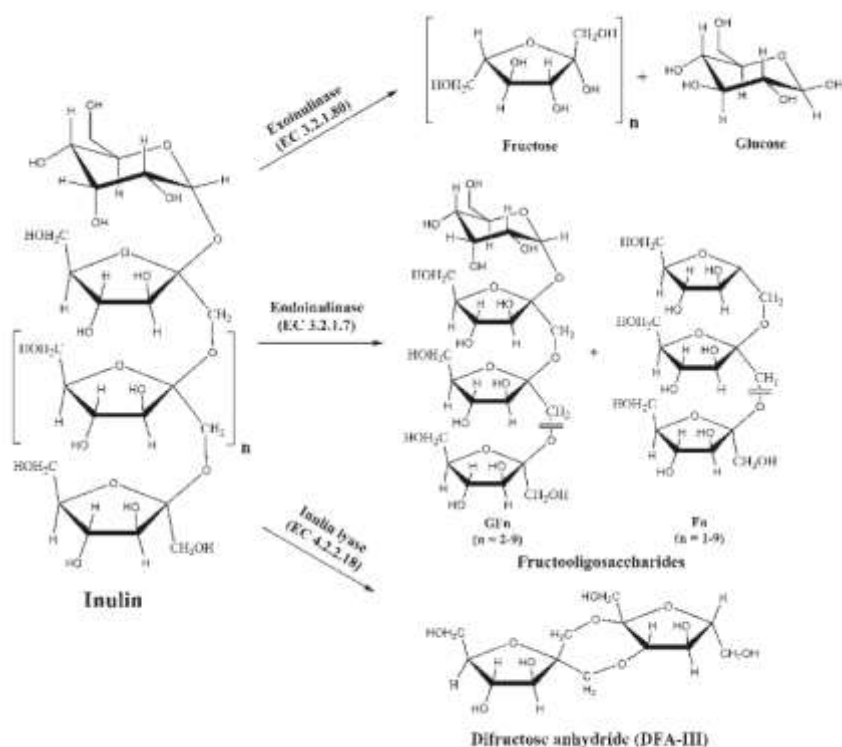


Imagen 1: Acción de la inulinasa. Enzymatic Approaches for the Synthesis of High Fructose Syrup

R.S. Singh, K. Chauhan, and R.P. Singh Structure depicting both  $\alpha$ -1,3 and  $\alpha$ -1,6 linkages also in 1937 by Staudinger and Husemann: U<sup>ber</sup> hochpolymere Verbindungen. 150. Mitteilung. U<sup>ber</sup> die Konstitution der Sta<sup>r</sup>rke. Liebigs Ann. Chem. 1937, 527, 195–236.

Este proceso enzimático se realiza en un solo paso, actuando directamente en el enlace  $\beta$ -(2, 1) de la inulina, liberando así unidades de fructosa. En comparación con el método usado en el almidón, el rendimiento es del 95%. Son las condiciones las que fuerzan los cambios, y es la incertidumbre que tuvo la industria a lo largo del siglo XX lo que la empujó a buscar nuevas materias primas a partir de las cuales poder extraer el jarabe de fructosa, buscando en todo momento la eficiencia y el rendimiento económico.

En 1960 se consiguió alcanzar una dulzura equivalente a la sacarosa gracias a los avances en refinación e isomerización sintetizando jarabe de maíz alto en fructosa también conocido por las siglas JMAF, poco tiempo después en 1980 conseguiría reemplazar el azúcar usado en las bebidas gaseosas. La fructosa supone un gran avance en la industria por ser un compuesto ideal para la sustitución de la sacarosa, y por los beneficios que presenta. El metabolismo no utiliza la insulina para su digestión, es decir, no sigue la ruta metabólica de la glucosa.

Se patentó este proceso enzimático en Estados Unidos hacia el 1960 y seis años más tarde aparece la posibilidad de usar la glucosa isomerasa soluble gracias al descubrimiento de investigadores japoneses. No siempre los descubrimientos nos van a llevar a una solución apropiada como es este caso. Mediante la glucosa isomerasa soluble sólo se consiguió un rendimiento del 15%. No era rentable tampoco económicamente, pero hubo una apreciación que cambiaría las cosas y es que esta enzima era idónea para ser inmovilizada gracias a que tanto la glucosa y la fructosa no tienen carga eléctrica. Esto permite el uso de un derivado de la celulosa cargado como material portador del enzima, si fuese otro sustrato con carga no podríamos llevar a cabo el proceso. Se llevó a aplicación en la empresa de Clinton Corn Processing en 1968 mediante un proceso discontinuo consiguiendo un porcentaje de fructosa del 42%. Cuatro años después se realizó el mismo proceso, pero de manera continua.

Para el salto a la industria se desarrolló un sistema complicado de filtros de presión y un sistema separador de cobalto, que se usaba para estabilizar las enzimas.

El cambio del mercado en 1974 cambió el panorama industrial, el azúcar pasó a valer en Estados Unidos 1,25 dólares lo que dio paso al interés por la fructosa, simultáneamente la empresa danesa Novo industry, consiguió obtener un sistema de enzima inmovilizado más barato, sin el uso del cobalto y con la capacidad de soportar altas presiones en los reactores. En 1978 mejorando los sistemas de separación se consigue un jarabe con mayor porcentaje de fructosa (55%), que se usó para edulcorar bebidas ácidas como la Coca-Cola, reemplazando así la sacarosa y aumentando masivamente el uso del jarabe de fructosa (Renneberg *et al.*, 2012).

## Mejoras de rendimiento

La manera más fácil de optimizar la obtención de jarabe a partir del almidón, es mediante la obtención de un producto almidonado de alta pureza, buena calidad y bajo coste. Esto pone al maíz como un producto que revolucionó la industria de los jarabes. El maíz es el principal grano de cultivo en los Estados Unidos. La producción en el año 1975 fue de superior a 168 millones de toneladas, obtenido en forma de grano limpio (sin cáscaras) y seco. En torno al 61% se destina a las granjas y tan solo el 6% se destinaba a la industria, donde se trataba mediante molienda húmeda, un procesado muy característico del maíz. Menos del 3% se usa para otros usos y casi el 30% se lleva a exportación. Esto nos indica que hay una producción abundante y estable de este producto lo que hace de él una buena materia prima para la industria de los jarabes. No sólo a nivel de producción, sino a nivel logístico, es de fácil almacenamiento y transporte. Ya en 1976 la producción de D-glucosa era de más de 10 millones de toneladas anuales.

En cuanto a las enzimas, hay largos estudios acerca de cuál son las que mejor rendimiento ocasionan, llegando a conclusiones como que las cepas de  $\alpha$ -amilasa producidas por *Arthrobacter* y *Streptomyces* son las que dan mejor rendimiento proporcionan en ausencia de la D-xilosa. En cuanto a los parámetros del proceso sobre los que hay que tener mayor control, tenemos la aireación, la agitación y el control del pH (entre 7 y 8), que dan resultados de máximo rendimiento para la isomerasa entre las 50 y 70 horas. Realmente lo que nos puede bajar el rendimiento y hay que controlar son las contaminaciones, pueden tener efectos desastrosos en la producción (Macallister, 1979).

En 1974 el proceso de industrialización del jarabe de fructosa, produjo un proceso de retroalimentación complejo entre las industrias de jarabes y los productores de enzimas. Los productores de enzimas sólo producían enzimas solubles, que eran de bajo coste y se usaban en gran cantidad. En cambio, no estaban familiarizados con enzimas de costosa producción que pudiesen reutilizarse y evitar su desactivación. Y es sin lugar a dudas la demanda la que abre el camino a la producción. Es por ello que evolucionaron estas industrias para dar respuesta a la demanda del mercado y producir a gran escala este tipo de enzimas. Buscando cada vez más la diferenciación mediante el desarrollo de enzimas más sofisticadas.

Estas enzimas permitieron cambiar de un sistema discontinuo de producción (por lotes), a un sistema continuo. Se consiguió fijarlas a un sistema de filtros en láminas (tratándolas con calor) por donde se hacía pasar la solución de glucosa. Se llega a obtener con este método una conversión del 45%, de glucosa a fructosa, en un primer momento aún era necesario el uso del cobalto (2+). La combinación de las enzimas con el sistema de filtrado y su posterior recubrimiento, evitó la pérdida de enzimas, aunque la fuga de componentes celulares en el jarabe seguía siendo un problema. Este problema lo solucionó la compañía Clinton Corn Company, patentando un proceso de obtención de enzima que permitía desechar los restos celulares.

El proceso consistía en cultivar de manera aeróbica *Streptomyces rubiginosus* (cultivo sumergido), recogiendo el cultivo por filtración. Se mezcla un kg de torta con 5 litros de agua desionizada, a la cual hemos añadido 5mM de cobalto 2+ y 8 gramos de detergente catiónico. Se mezcla a 60 grados y pH 6.7-6.8 durante 4 horas, de tal manera que se rompen las células y se pueden eliminar los desechos nuevamente por filtración. El sobrenadante contiene la glucosa isomerasa que se concentra a vacío. El concentrado de enzima contiene un material que le permite unirse a la dietilaminoetil-celulosa (resina), aunque disminuirá la actividad del complejo enzimático. Se va mezclando y limpiando con agua esta unión hasta obtener la glucosa isomerasa purificada, cuya vida media ronda las 200 horas (Thompson *et al.*, 1970).

Este avance sustituyó las células fijadas por calor que propuso Clinton, aunque seguía siendo necesario el cobalto y la glucosa isomerasa producida formaba un gel blando que se intentaba fijar entre el sistema de filtración por láminas. Realmente se buscaba un sistema de enzimas fijo, ya que pese a poder usar este sistema durante cientos de horas, seguía siendo susceptible a los cambios en el proceso. El siguiente paso fue la obtención de xilosa cultivando *Bacillus coagulans*, se centrifuga el caldo de fermentación a 10°C, se obtiene de este un producto con 12% en materia seca. El concentrado se lleva a pH 7.9 durante 3 horas a 20°C. se añade glutaraldehído al 50% y obtenemos el gel con enzimas. Estas se rompen de forma mecánica y se diluyen en agua junto con un floculante catiónico, después filtrar y secar, se pasa por un tamiz de alrededor de 1 mm para luego airear en un lecho fluidizado a 50°C. Tenemos como resultado un producto seco que se muele y tamiza a 100-350 µm.

En condiciones óptimas, una cantidad de 10-15 g del producto obtenido pueden isomerizar 1 kg de sólidos de glucosa al 45% de conversión en 20 horas (Amontz *et al.*, 1974).

El producto siguió su innovación gracias a Nagase Denki Kagaku Kogyo, que usaron el enzima de *Streptomyces phaeochromogenes* que denominaron “Sweetase”. El cultivo celular se llevó a cabo mediante inmersión, en condiciones aeróbicas (con extracto de xilano). Se trata térmicamente para evitar autólisis y la fuga de enzimas, después se recogen los micelios por filtración y se inmovilizan con una resina de intercambio aniónico (insolubles en agua). Pasa por un proceso de deshidratación y granulado, para que finalmente se seque a 60°C durante 3 hora (Ishimatsu *et al.*, 1976). Esta enzima se usó en los sistemas de lecho fijo, este método subió la productividad y bajó los costes de producción hasta casi la mitad. En cuanto al cobalto ya no era necesario para la estabilidad del enzima, también bajó la formación de subproductos, así como el tiempo que permanecía el producto en el tanque.

El siguiente paso para la optimización del proceso, sería la purificación del sustrato para facilitar la acción de las enzimas y mejorar el rendimiento. El almidón que se obtiene contiene varios tipos de impurezas con las que hay que tratar, como son los aminoácidos, péptidos, lípidos e iones. Un jarabe insuficientemente purificado puede reducir el rendimiento en un 50%. Estas impurezas pueden incluso afectar a la obstrucción de las columnas. El principal método de purificación es el centrifugado y la filtración. Algunos iones como es el calcio (2+), pueden actuar como inhibidores e impedir la actuación de las enzimas, es por ello que se eliminan mediante intercambiadores iónicos. El proceso de purificación normal comprende el tratamiento de carbón activo con carbón en polvo o granular, seguido de un proceso de intercambio iónico y adición de magnesio (2+). El proceso de intercambio de iones, consta de un intercambiador de cationes y un intercambiador de aniones. La eficiencia del tratamiento del carbono y los procesos de intercambio iónico se controlan midiendo la absorción UV y la conductividad. Se agrega una pequeña cantidad de magnesio (2+) antes de la isomerización, porque es un poderoso activador y porque puede prevenir el efecto inhibidor del calcio si el magnesio tiene un excedente de 10 a 20 veces.



Hacia principios de los 80 se empezó a buscar la eliminación de inhibidores de la isomerasa mediante oxidación, como es el caso del peróxido de hidrogeno (50-500ppm) o reducción, utilizando el borato de sodio (40-200 ppm). Estos métodos permitían prolongar la vida útil del jarabe. Se mejoraron los materiales usados y se desarrollaron como es el caso de las columnas de óxido de silicio o aluminosilicato que aumentan la productividad del enzima (Jensen y Rugh, 1987).

### **Descripción del proceso**

El proceso, lo podremos ver a groso modo en los anexos, mediante un diagrama de flujo. No obstante, en este apartado hablaremos de los puntos importantes del proceso para obtener el resultado óptimo.

Cuando realizamos la hidrólisis ácida del almidón para la producción de jarabe, buscamos un jarabe de 35 a 42 ED (equivalentes de dextrosa). Se trabaja con el almidón en forma de lechada, en la que el agua (preferiblemente de mineralización débil) ronda los 20 o 30°C. El contenido en sólidos de la lechada tiene que ser del 30-40 % además de contener 200 ppm de SO<sub>2</sub>. Este minimiza la contaminación microbiana, que se traducirá en disminución del color, ya que las bacterias forman las proteínas causantes del color.

Añadimos ácido hasta reducir el pH de la lechada a 1.65 y pese a poder usar cualquier ácido, es preferible usar el ácido clorhídrico ya que es fácil de conseguir y tiene un mayor poder hidrolítico que el ácido sulfúrico, por ende, se necesitará menos cantidad. También se usa porque las sales obtenidas del ácido son solubles y no dan mucho problema. Algunas industrias para comprobar el pH también miden la conductividad de la lechada. La conversión es el proceso que sufre el almidón al gelatinizar, reaccionar con el ácido y romper los enlaces, dando lugar a la aparición de los azúcares. Este proceso se lleva a cabo a altas presiones y temperaturas. En la actualidad se tiende a usar un intercambiador de placas para calentar la lechada acidificada y permitir la conversión. Se bombea a un primer intercambiador hasta llegar a 143°C, entonces se obtiene almidón gelatinizado y seguidamente se lleva a otro intercambiador a 135°C donde termina este proceso. Obteniendo jarabe con un 42% de pureza.

Una vez formado el jarabe se pasa a un proceso de neutralización, ajustando el pH a 4.5 con carbonato de sodio, de esta manera se para la reacción y además precipitan las proteínas presentes en el almidón, ya que 4.5 de pH coincide con el punto isoeléctrico de estas. El siguiente paso sería una centrifugación y filtrado cuya finalidad es limpiar el



jarabe de impurezas, como pueden ser proteínas precipitadas, fibras o grasas. Si este proceso se realiza incorrectamente afectaría a la siguiente etapa de mezclado con las resinas, las impurezas recubrirían la zona de intercambio iónico impidiendo eliminar el color del jarabe.

Una vez filtrado se mezcla con resina de carbón activo para blanquear el jarabe, generalmente a una temperatura de 50°. Este es muy eficaz con las impurezas de base orgánica. Mediante el intercambio iónico se eliminan iones metálicos y sales minerales. Algunas industrias mezclan en una relación 50/50 el carbón activo con madera o turba (se usa menos porque puede agregar de nuevo minerales al jarabe). De esta manera, eliminamos el color del jarabe. El proceso de coloración en el jarabe se debe principalmente a la reacción de caramelización del jarabe y la reacción de Maillard se las proteínas. Al añadir dióxido de azufre a la lechada bloquea las zonas reactivas de los azúcares reductores (grupos aldehídos), esto reduce la formación de color.

El siguiente paso a llevar a cabo será una evaporación a vacío hasta una concentración de sólidos del 70% para evitar el crecimiento microbiano. El contenido final de sólidos dependerá del grado de ED (equivalentes de dextrosa).

También se usa el método combinado de hidrólisis ácida y enzimática cuando se quiere obtener por ejemplo un jarabe de 63 ED, un jarabe más dulce. Como resultado de este método, se obtuvo mayor dulzor y ausencia de sabores desagradables (efecto que se producía en la hidrólisis ácida al querer obtener jarabes con un ED mayor de 50).

Una vez se obtiene por hidrólisis ácida el jarabe de 42 ED se neutraliza el ácido, se centrifuga y se filtra. Pasando el jarabe al tanque de enzimas, donde se ajustará el pH a 5,5 y la temperatura a 60°C. Una vez ajustados ambos parámetros, añadimos dos enzimas amiloglucosidasa y  $\beta$ -amilasa. Se monitoriza entonces el tanque midiendo el espectro de azúcar y el ED, hasta obtener el jarabe deseado (el tiempo de residencia normalmente ronda las 36 horas). El siguiente paso es pasarlo al tratamiento con carbón. Hay que evitar que la adición de las enzimas se realice antes de ajustar el pH y la temperatura, pues pueden desactivarse. Este proceso es discontinuo, lo que indica que se llena un tanque tras otro, por lotes.

Algunos jarabes como los que se obtienen del trigo forman coloides que ensucian los filtros, por lo que en el tanque añadimos también  $\beta$ -glucanasas para reducir el ensuciamiento de las telas filtrantes. Produciéndose una fase de filtración adicional (Hobbs, 2009).

Por otro lado, la fructosa se obtiene mediante el uso de enzimas inmovilizadas, es posible obtener jarabes de 42, 55 o incluso de 90% de fructosa. Para ello se comienza produciendo una lechada de almidón con al menos 35% de sólidos y un pH de 6.5 que se somete a un tratamiento de vapor de 82°C en presencia de una  $\alpha$ -amilasa termoestable (esta se estabiliza con calcio). Se mantiene a esta temperatura durante ciclos de 3 a 5 minutos. En un reactor secundario se vuelve a añadir  $\alpha$ -amilasa, esta vez a 95°C permaneciendo dos horas en el reactor.

El producto intermedio que se obtiene es de aproximadamente 12 ED. Bajamos después el pH a 4.3 para añadir la glucoamilasa, bombeando el producto a los tanques de sacarificación (con tiempos de reacción de 24 a 90 horas). Gracias a la glucoamilasa se obtiene un jarabe de 94% de dextrosa, que más es filtrado para eliminar proteínas y grasas residuales antes de tratar con carbón activo.

Después del proceso de purificación de carbón activo y la desionización, se prepara el producto para la conversión a jarabe de fructosa. Para ello, se trabaja con la glucosa isomerasa inmovilizada. Pese a que existen procesos no enzimáticos, la mayoría de estos producen subproductos no deseables, produciendo cenizas, olores o incluso cambio de sabor.

Cabe destacar que es muy importante el cambio que se produjo al conseguir enzimas inmovilizadas, sin lugar a dudas, fue el avance que permitió la viabilidad a nivel industrial. También permitió trabajar con reactores más pequeños y en tiempos más cortos. El proceso de isomerización corresponde a una reacción de primer orden y es reversible.

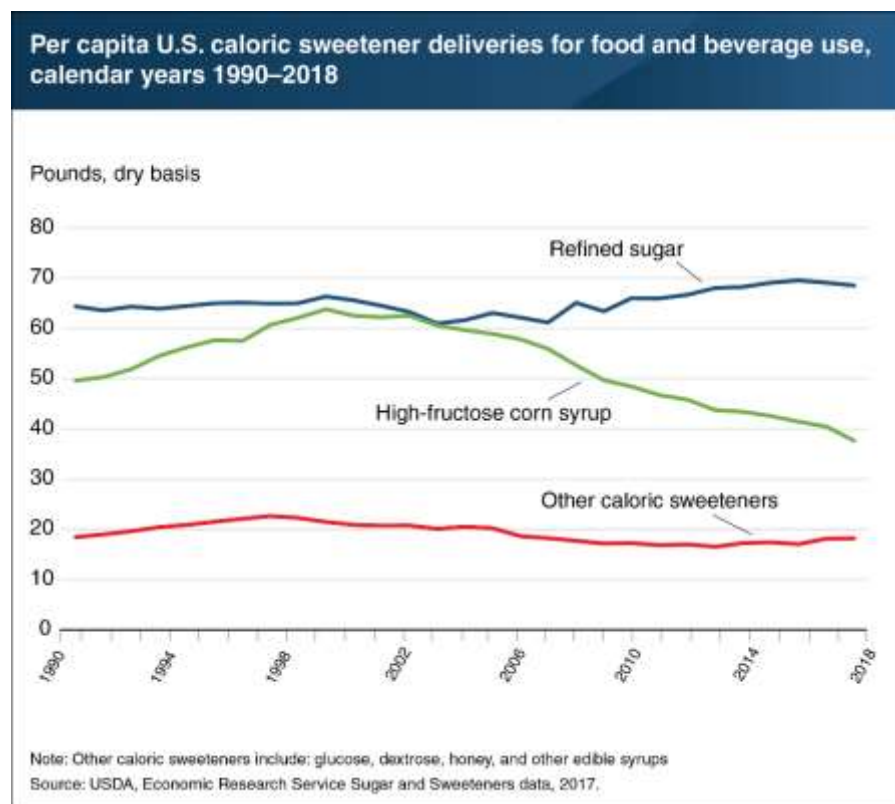
La actividad catalítica de la glucosa isomerasa requiere de iones divalentes como el cobalto, el magnesio o manganeso, esta actividad puede verse interferida por iones monovalentes como el cobre, níquel, plata u otros, es por ello que el proceso de deionización es muy importante. El pH óptimo para esta enzima se encuentra entre 6.5-8.5 y la temperatura a la que se trabaja es entre 40 y 80°C Durante alrededor de cuatro horas. Para controlar el nivel de fructosa, hay que controlar el caudal, la temperatura y el pH. Tras la conversión se lleva el producto a tratar con carbono activo, para luego evaporar hasta ajustar el contenido en sólidos al 71-80% (Hobbs, 2009).

## Datos de producción

Como principal protagonista en la industria de los edulcorantes, es interesante observar la evolución que ha tenido el uso de jarabes y otros azúcares e los últimos años. Según la USDA (Departamento de agricultura de los Estados Unidos), esta ha sido la evolución en los últimos 20 años aproximadamente.

Los pedidos por parte de la industria alimentaria de azúcares calóricos, tuvo un total de 185 mil millones de kilogramos en seco durante el año 2018, un dos por ciento menos al año anterior. Pese a que el azúcar refinado se mantiene estable e incluso está aumentando ligeramente, el jarabe tiene tendencia a la baja desde principios del 2000, ha caído la demanda un 40%. Pese a que los motivos de variación tienen que ver con las importaciones, la subida de precios en algunos periodos etc... se observa una ligera bajada en la demanda de estos azúcares por parte de fabricantes y consumidores en los últimos 4 años.

Otros edulcorantes como la glucosa, la miel entre otros, representan una pequeña parte en este diagrama y están agrupados en “Other caloric Sweeteners” (USDA,2019).



## Bibliografía

- Ali, A., Wani, T.A., Wani, I.A. & Masoodi, F.A. (2016). "Comparative Study of The Physico-Chemical Properties of Rice and Corn Starches Grown in Indian Temperate Climate" in *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15 (1) pp. 75-82.  
DOI : 10.1016/j.jssas.2014.04.002
- Amontz S.,Nielsen T.K., and Thiesen, (1974). Patente Belga 809546
- Asgher, M. *et al.* (2007). "A thermostable  $\alpha$ -amylase from a moderately thermophilic *Bacillus subtilis* strain for starch processing", *Journal of Food Engineering*, 79(3), pp. 950-955.  
DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.12.053.
- Azmi, A. S. *et al.* (2016). "Co-production of lactic acid and ethanol using rhizopus sp. from hydrolyzed inedible cassava starch and leaves", *IJUM Engineering Journal*, 17(2), pp. 1-10.  
DOI: 10.31436/iiumej.v17i2.610.
- Azmi, A. S., Malek, M. I. A. y Puad, N. I. M. (2017). "A review on acid and enzymatic hydrolyses of sago starch", *International Food Research Journal*, 24(12), pp. 265-273.  
Disponible en : [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(07\)%202017%20supplementary/\(2\)%20R1.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(07)%202017%20supplementary/(2)%20R1.pdf)  
[Consultado 12-05-2020]
- Ball, S.,Colleoni, C.,Cenci,U.,Raj, J.N., and Tirtiaux, C.(2011). The evolution of glycogen and Starch metabolism in eukaryotes gives molecular clues to understand the establishment of plastid endosymbiosis. *J.Exp.Bot.* 62, 1775–1801. DOI:10.1093/jxb/erq411
- Bej, B., Basu, R. K. y Ash, S. N. (2008). "Kinetic studies on acid catalysed hydrolysis of starch", *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(4), pp. 295-298. Disponible en : <https://pdfs.semanticscholar.org/99fc/2f0a3a1545ed543ce65e8da81ac5e114b4e3.pdf> [Consultado 03-06-2020]
- Biblioteca de la Universidad de Zaragoza (2019). Biblioteca de la Universidad de Zaragoza. Disponible en: <http://biblioteca.unizar.es/> [Consultado 02-07-2020].
- Birch G.G y Etheridge I. J. (1973). «Chemical and Physiological Properties of Glucose Syrup Components», (7), pp. 235-238.  
DOI: 10.1002/star.19730250705
- Bode J.W, Mark W. Empie, D. B. (2014). «Evolution of High Fructose Corn Syrup Within the Sweeteners Industry», *Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health*, pp. 1-379. doi: 10.1007/978-1-4899-8077-9.
- Brewer W.H (1884). "Glucose in its sanitary aspects. ", *Public health papers and reports*, 10:100-105.
- Cabezas Jaramillo, F. y Campos Delgado A., (2015). "Tipos de azúcar, sucedáneos y edulcorantes artificiales, aplicados en recetas de repostería". [online] Dspace.ucuenca.edu.ec. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23260/1/tesis.pdf> [Consultado 18-02-2020].
- Camacho Ruiz M.I (2009). *Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de bioetanol.*, *Obtención de jarabes de glucosa a partir de almidón de yuca por medio de hidrólisis enzimática, para ser usados como sustrato en la producción de bioetanol.* Universidad industrial de Santander.  
Disponible en: <http://noesis.uis.edu.co/bitstream/123456789/3374/1/132420.pdf>. [Consultado 12-05-

2020].

Cato, M. (1934). Loeb Classical Library, Chapter LXXXVIII. *Marcus Cato On Agriculture*: DOI: 10.4159 / DLCL.cato-Agriculture.1934.

Charles, A. L. *et al.* (2005). "Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of cassava starches", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), pp. 2717-2725.

DOI: 10.1021/jf048376+.

Daniel, Roy L., W. and J. R. (1989). "Molecular structure of starch: *Chapter VI*", 41(1-2), pp. 75-80.

DOI: 10.1007/BF00022414.

De Saussure, N.-T., Observations sur la décomposition de l'amidon à la température atmosphérique par l'action de l'air et de l'eau. Phil. Trans. Royal Soc. London, Abstracts (1818)., 2, 105–106 (English abstract).

Eckhoff, S. R. y Watson, S. A. (2009). *Corn and Sorghum Starches: Production*. Third Edit, *Starch*. Third Edit. Elsevier Inc.

DOI: 10.1016/B978-0-12-746275-2.00009-4.

Eggleston, G. (2007). "Advances in the industrial application of enzymes on carbohydrate-based materials", *ACS Symposium Series*, 972, pp. 1-16.

DOI: 10.1021/bk-2007-0972.ch001.

Fischer, H. E. (1989). "Origin of the "Weisse Schlesische Rübe" (white Silesian beet) and resynthesis of sugar beet", *Euphytica*, 41(1-2), pp. 75-80.

DOI: 10.1007/BF00022414.

García Garibay, M., Quintero Ramirez, R. and López Munguía, A., (2004). *Biotechnología Alimentaria*. 5th ed. Balderas (México): Noriega editores, p.526.

Hdl.huntington.org. (2020). *The Huntington Library, Art Museum, And Botanical Gardens*. Disponible en: <https://hdl.huntington.org/digital/collection/p16003coll4/id/4776/> [Consultado 07-08-2020].

Hebelstrup, K. H., Sagnelli, D. y Blennow, A. (2015). "The future of starch bioengineering: GM microorganisms or GM plants", *Frontiers in Plant Science*, 6(APR), pp. 1-6.

DOI: 10.3389/fpls.2015.00247.

Herstein, B. (1911). "The Centenary of Glucose and the Early History of Starch. ", *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, 3(Marzo), pp. 158–168.

DOI: 10.1021/ie50027a007.

Hernández, A., Arrieta, R. y Alfaro, I., (2003). *Microbiología Industrial*. San José (Costa Rica): Euned, pp. 208-209.

Hobbs, L. (2009). *Sweeteners from Starch : Production , Properties and Uses*. Third Edit, *Starch*. Third Edit. Elsevier Inc.

DOI: 10.1016/B978-0-12-746275-2.00021-5.

Hoseinpour, H. *et al.* (2010). "Simultaneous pretreatment of lignocellulose and hydrolysis of starch in mixtures to sugars", *BioResources*, 5(4), pp. 2457-2469.

DOI: 10.15376/biores.5.4.2457-2469.

Hull, P. (2010). Glucose Syrups: *Technology and Applications*.

DOI: 10.1002/9781444314748, pp.25-36

Ishimatsu, Yoshiaki; Shigesada, Shigeki; and Kimura, Shoji, to Dekni Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha. *Immobilized enzymes*. (1976). Patent number: 3915797

Jensen, V. J. y Rugh, S. (1987) "Industrial-Scale Production and Application of Immobilized Glucose Isomerase", *Methods in Enzymology*, 136(C), pp. 356-370.

DOI: 10.1016/S0076-6879(87)36035-5.

Kaur, B., Ariffin, F., Bhat, R., Karim, A.A., (2012). "Progress in starch modification in the last decade." *Food Hydrocolloids* 26, 398-404.

DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.02.016

Larissa M. Wilson, Sherry R. Whitt, Ana M. Ibañez, Torbert R. Rocheford, M. M. G. y IV, and E. S. B. (2014). "Dissection of Maize Kernel Composition and Starch Production by Candidate Gene Association", *Proceedings of 2014 Zone 1 Conference of the American Society for Engineering Education (ASEE Zone 1)*, 16(October), pp. 2719–2733.

DOI: 10.1105/tpc.104.025700.important.

Macallister, R. V. (1979). "Nutritive Sweeteners made from Starch", *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 36, pp. 15-56.

DOI: 10.1016/s0065-2318(08)60234-6.

Maldonado-Guzmán, H., López-Paredes, O. y Biliaderis, G. C. (1995). "Critical Reviews in Food Science and Nutrition Amylolytic enzymes and products derived from starch : A review Amylolytic Enzymes and Products Derived from Starch : A Review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(5), pp. 373-403.

Maningat, C. C. *et al.* (2009). *Wheat Starch: Production, Properties, Modification and Uses*. Third Edit, Starch. Elsevier Inc.

DOI: 10.1016/B978-0-12-746275-2.00010-0.

Mohammadi Nafchi, A. *et al.* (2012). "Physicochemical, thermal, and rheological properties of acid-hydrolyzed sago (Metroxylon sagu) starch", *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 46(1), pp. 135-141.

DOI: 10.1016/j.lwt.2011.10.015.

Morales Suárez Y., i. a. s. p. (2004). *Diseño conceptual y comparación técnica de los procesos de hidrólisis ácida y enzimática para la producción de glucosa a partir de almidón de yuca*. Universidad industrial de Santander facultad de ciencias fisicoquímicas escuela de ingeniería química Bucaramanga.

Morejón Cruz, J. E. (2016) *Sustitución de la hidrólisis ácida por la enzimática en la obtención de jarabes glucosados utilizando almidón de maíz como sustrato*.

Panoramagriego.gr. (2012). Productos Alimenticios Griegos: La Miel. [online] Disponible en: <https://www.panoramagriego.gr/index.php/home/archivo/8-blogs/870-productos-alimenticios-griegos-la-miel> [Consultado 18-02-2020].

Nigam, P. y Singh, D. (1995). "Enzyme and microbial systems involved in starch processing". *Enzyme and Microbial Technology*, 17(September), pp. 770–778.

DOI: 10.1016/0141-0229(94)00003-A.

Norman B.E, (1983). "A novel *Bacillus pullulanase*. Its properties and application in the glucose syrups industry. ", *Journal of the Japanese Society of Starch Science*, 30(2), pp. 200-211.  
DOI: 10.5458/jag1972.30.200.

Nigam, P. y Singh, D. (1995). "Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Enzyme and Microbial Technology*", 17(9), pp. 770-778.  
DOI: 10.1016/0141-0229(94)00003-A.

Østergaard, L. H. y Olsen, H. S. (2011). "Industrial Applications of Fungal Enzymes", *Industrial Applications*, pp. 269-290.  
DOI: 10.1007/978-3-642-11458-8\_13.

Payen A., Perscoz J. F. (1833). Mémoire sur la Diastase, les principaux Produits de ses Réactions, et leurs applications aux arts industriels. *Annales de chimie et de physique*. pp.73-83. Paris. Bibliothèque nationale de France. Disponible en : <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6569011n/f79.vertical>

Rippe, J. M. (2014). *Fructose, high fructose corn syrup, sucrose and health*, Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health, pp. 1-379.  
DOI: 10.1007/978-1-4899-8077-9.

Renneberg, R., Centelles Serra, J., Ferrer Peralta, M. y Süßbier, D., (2012). *Biotechnología Para Principiantes*. Barcelona, etc.: Reverté, págs.42-45.

Schwartz, D. y Whistler, R. L. (2009). *History and Future of Starch*. Third Edit, *Starch*. Third Edit. Elsevier Inc.  
DOI: 10.1016/B978-0-12-746275-2.00001-X.

Seetharaman, K. y Bertoft, E. (2012a). "Perspectives on the history of research on starch Part I : On the linkages in starch", *Starch/Stärke*, pp. 1-6.  
DOI: 10.1002/star.201200088.

Seetharaman, K. y Bertoft, E. (2012b). "Perspectives on the history of research on starch Part II : On the discovery of the constitution of diastase", *Starch/Stärke*, pp. 1-5.  
DOI: 10.1002/star.201200119.

Sidney M. Cantor, Riverside, and K. C. y Hobbs, Berwyn, I. (1944). "Conversion of dextrose to levulose". New York (EEUU). Disponible en: <https://patents.google.com/patent/US2354664A/en>.

Sunaryanto, R., Hariasih Handayani, B. y Safitri, R. (2013). "Enzymatic and Acid Hydrolysis of Sago Starch for Preparation of Ethanol Production", *Microbiology Indonesia*, 7(2), pp. 68-74.  
DOI: 10.5454/mi.7.2.4.

Takamine, J. (1914). "Enzymes of *aspergillus oryzae* and the application of its amylolytic enzyme to the fermentation industry", *Industrial and Engineering Chemistry*, 6(10), pp. 824-828.  
DOI: 10.1021/ie50070a015.

Thompson K. N., Johnson R. A., and Lloyd N.E, Clinton, Iowa, assignors to Standard Brands Incorporated, New York, N.Y. *Process for isomerizing glucose to fructose*. 11 (9), (1970). Disponible en: <https://patentimages.storage.googleapis.com/b2/ca/b2/13af1e4db4232c/US3788945.pdf>

United States Department of Agriculture Economic Research Service. (2019). *Per Capita Sweetener Deliveries Steadily Declining Largely Due To Reduced Demand For High-Fructose Corn Syrup*. [online]



Available at: <<https://www.ers.usda.gov/data-products/chart-gallery/gallery/chart-detail/?chartId=95264>> [Consultado 20-09-2020].

Vázquez Hoys, A., (1991). *La Miel, Alimento De La Eternidad*. Disponible en: <https://info.uned.es/geo-1-historia-antigua-universal/PDF/Miel%2060-70.pdf> [Consultado 03-01-2020].

Viviana, L. V. C. (2017). *Desarrollo de competencias científicas: Una propuesta didáctica para la comprensión del concepto glúcido en estudiantes de educación media*. Universidad Pedagógica Nacional Facultad de ciencia y tecnología maestría en docencia de la química Bogotá D.C.

Wang, C. *et al.* (2016). “Substituent distribution changes the pasting and emulsion properties of octenylsuccinate starch”, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 135, pp. 64-71.  
DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.044.

Watson A. M. (sin fecha). “*La Conquista islámica y los nuevos cultivos de Al-Andalus*”, Universidad de Toronto. pp. 111-124. Disponible en:  
[https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/fondo/pdf/10281\\_7.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/fondo/pdf/10281_7.pdf)

Whistler, R. L. (1984). “History and future expectation of starch use”, en *Starch*, pp. 1-9. doi:  
10.1016/B978-0-12-746270-7.50007-0.

William Henry Brewer (1882). “Glucose in its sanitary aspects.”, *Public health papers and reports*, 10.

Wisniak, J. (2017). “Nicolas Théodore Saussure: Contribuciones a la química y a la fisicoquímica”, *Revista CENIC. Ciencias químicas*, 49, pp. 1-17.

Wisniak, J. (2018). “Anselme Payen”, *Educación Química*, 16(4), p. 568.  
DOI: 10.22201/fq.18708404e.2005.4.66095.

Wisniak, J. (2018a). “Nicolas Théodore Saussure: Contributions to chemistry and physical chemistry Nicolas Théodore Saussure: contribuciones a la química y a la fisicoquímica”, *Revista CENIC. Ciencias químicas*, 49, pp. 1-17.

Yazid Mohamad, N. S. *et al.* (2018). “Application of Starch and Starch-Based Products in Food Industry”, *Journal of Science and Technology*, 10(2), pp. 144-174.  
DOI: 10.30880/jst.2018.10.02.023.

Yoshiyuki Takasaki and Osamu Tanabe. *Enzyme method for converting glucose in glucose syrups to fructose*. (1971). U.S. Patent ,616,221 Disponible en:  
<https://patentimages.storage.googleapis.com/97/00/90/75923d5c76e6f6/US3616221.pdf> [Consultado 20-05-2020].

Zobel, H. F. (1988). “Molecules to Granules: A Comprehensive Starch Review”, *Starch - Stärke*, 40(2), pp. 44-50.  
DOI: 10.1002/star.19880400203.